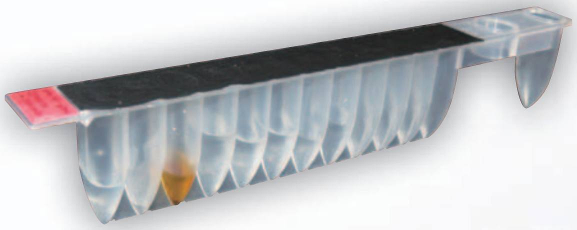
SPRIworksフラグメントライブラリシステム

次世代シークエンサー前処理装置

次世代シークエンサーの
ライブラリ構築を全自動化!



フラグメントライブラリ構築を完全自動化した次世代シークエンサー対応の前処理装置

次世代シークエンサーの登場により、大量の核酸配列情報の取得が容易となりました。しかし次世代シークエンサーは、多くの煩雑な前処理を必要とすることから、その性能を十分に発揮できていません。その大きな障壁の1つとして、DNAフラグメントライブラリの構築が挙げられます。DNAフラグメントライブラリの構築には、複数回の酵素処理、アガロースゲル電気泳動によるDNAフラグメントのサイズセレクション、そして各行程ごとに必要となる精製過程と、多くの操作が必要となります。

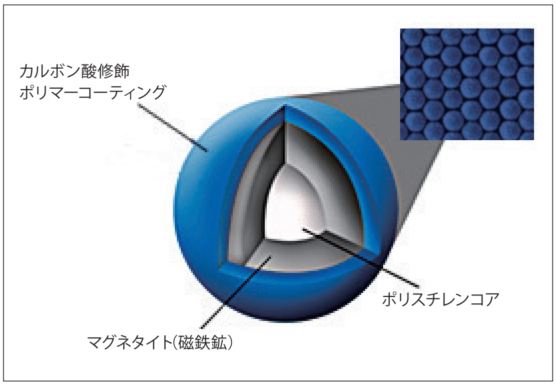
**ベックマン・コールターは、
すべての次世代シークエンサーユーザーに、
前処理のスループットを向上させる
SPRIworksフラグメントライブラリシステムを
提案いたします。**

本システムは、全自動核酸抽出装置 SPRI-TE™と、
SPRI®（Solid Phase Reversible Immobilization：可逆的固定法）
技術を利用したフラグメントライブラリ構築キットを
使用したシステムであり、
全自動でDNAフラグメントライブラリの作製が可能です。

図1. SPRIworksフラグメントライブラリシステム

SPRIworksの特長

- サンプルと試薬カートリッジをセットするだけの簡単な操作
- 磁性ビーズを用いたSPRI技術による全自動サイズセレクション
- 最大10サンプルを同時に処理し、4～5時間で処理が完了
- 実験台に置けるコンパクトなサイズ
- メソッドカードを交換するだけで、3種の次世代シークエンサーに対応するマルチプラットフォーム



SPRI磁性ビーズのイメージ

3種の次世代シークエンサーに対応

3種のSPRIworksフラグメントライブラリシステム——システムⅠ、システムⅡ、システムⅢ——は、それぞれ自動化用装置本体であるSPRI-TEと、各システムに対応する自動化プロトコールが保存されたメソッドカードと試薬キットの3つのコンポーネントで構成されています（図1）。
メソッドカードを変更し、対応する試薬キットを使用することにより、異なる次世代シークエンサーのフラグメントライブラリ構築に対応することも可能です。

SPRIworksのタイプ	対応するシークエンサー	各SPRIworksシステムの構成		
		装置本体	試薬キット	メソッドカード
システムⅠ	イルミナ社 Genome Analyzer, HiSeqシステム	全自動核酸抽出装置 SPRI-TE	システムⅠ用 10サンプル分	システムⅠ用 1枚
システムⅡ	ロシュ社 GS FLX, GS Junior		システムⅡ用 10サンプル分	システムⅡ用 1枚
システムⅢ	ライフテクノロジーズ社 SOLiDシステム		システムⅢ用 10サンプル分	システムⅢ用 1枚

サイズセレクションを含む
フラグメントライブラリ構築を全自動化

SPRIworksシステムの自動化行程は、断片化DNAの末端修復からPCRテンプレートの作製までとなります。断片化したDNAとアダプタをセットすることで、4～5時間で精製された状態のDNAフラグメントライブラリが完成します。

使用するDNAは、ネブライザー等によって断片化したDNAのほか、cDNAやPCR増幅産物でも使用可能です。また、末端修飾を行う前に核酸精製を行いますので、未精製サンプルをそのままセットできます。

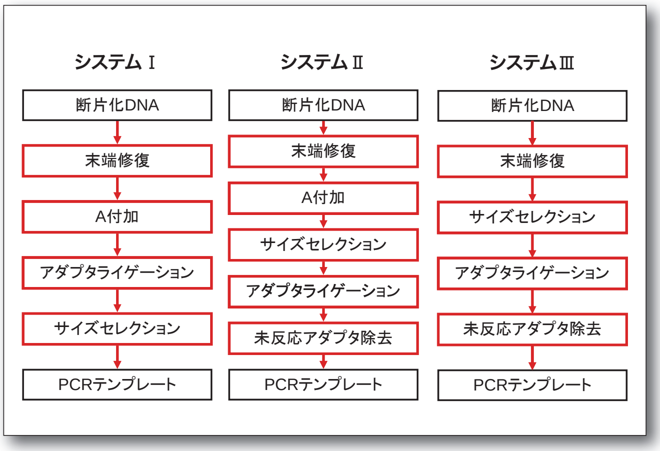


図2. SPRIworks自動化行程
赤枠の部分が自動化されます。

最大10サンプルを同時処理

SPRIworksフラグメントライブラリシステムは、同時に1～10サンプルの処理を行うことが可能です。
10サンプル処理する場合、マニュアル法と比較し、約5倍のスループットを出すことができます（図3）。

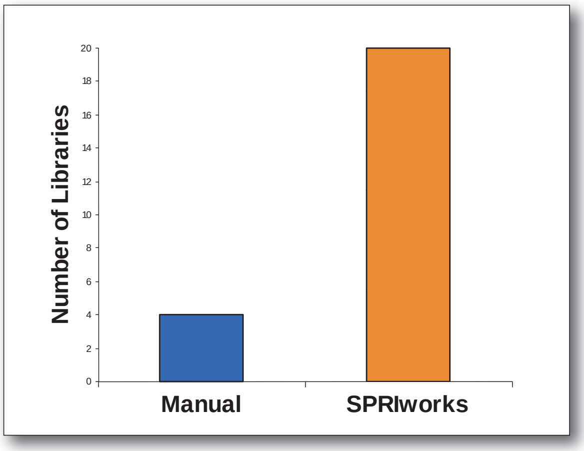
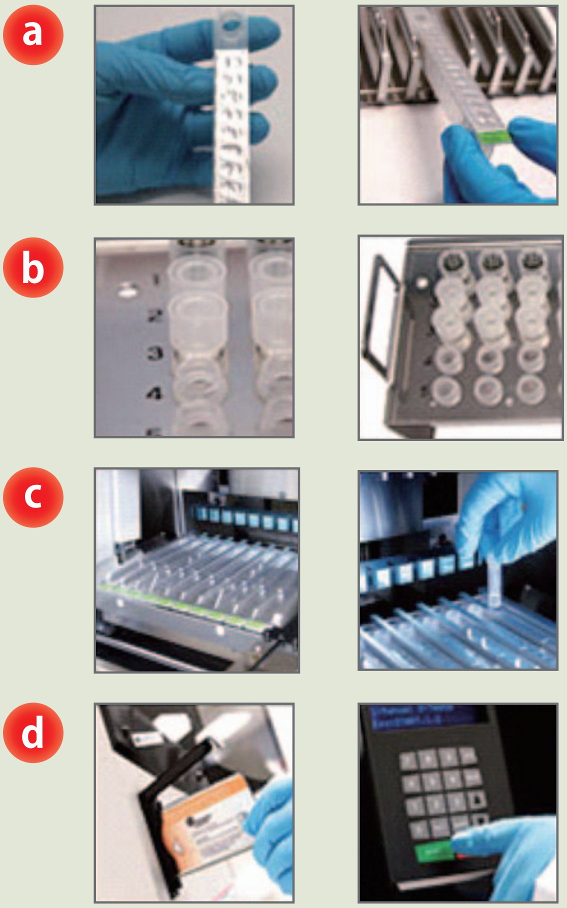


図3. マニュアル法 vs SPRIworks スループット比較
システムⅠの場合、1日20ライブラリが構築できます（マニュアル法は4ライブラリ）。

使い方は簡単！
10サンプルでも、わずか5分で処理開始が可能

各システムの試薬キットには、試薬およびチップ等の消耗品が含まれています*。試薬はプレパッケージ化された試薬カートリッジに入っているため、簡単に準備することができ、10サンプル処理する場合、約5分間で機器のセットアップが完了します。



1. 試薬ラックに試薬カートリッジをセットする（a）。
2. ラブウェアラックに分注チップ、ピアッサー、回収チューブ、アダプタ*をセットする（b）。
3. SPRI-TEに試薬ラックをセットし、奥のホールにサンプルDNAをセットする（c）。
4. SPRI-TEにラブウェアラックをセットする。
5. メソッドカードを差し込み、STARTキーを押す（d）。

＊SPRIworksフラグメントライブラリキットにアダプタは含まれません。別途対応するアダプタが必要となります。

図4.　シンプルなセットアップステップ

SPRI-TEスタートアップキット

別売の専用メソッドカードおよび試薬キットを用いて、以下のアプリケーションの自動化を行うことも可能です。

- ホルマリン固定パラフィン包埋組織切片からの核酸精製
- 全血、血しょう、血清からのウイルス核酸精製
- 全血からのゲノムDNA精製

SPRIworksフラグメントライブラリシステムⅠ

イルミナ社製 Genome Analyzer, HiSeqシステム用

システムⅠは、イルミナ社製の次世代シークエンサーに対応し*1、1回の処理を約5時間で行います*2。
システムⅠのDNAフラグメントのサイズセレクションは、ショートフラグメント(200 ～ 400bp)、ロングフラグメント(300 ～ 600bp)、サイズセレクション無しの3タイプを選択することができます。

異なる10ライブラリをSPRIworksで処理した後、その再現性をアジレント社製ハイセンシティビティ DNAチップで計測した結果を図5に示します。SPRIworksは、非常に再現性良くサイズセレクションを行えます。

SPRIworksフラグメントライブラリシステムⅠで構築した大腸菌ライブラリをGAⅡでシークエンスした結果を表1に示します。ショートフラグメント、ロングフラグメント共に高い再現性を示しています。

＊1 MiSeqシステムには対応しておりません。 ＊2 サイズセレクションを行った場合です。

ショートフラグメント（200 ～ 400bp） ロングフラグメント（300 ～ 600bp）

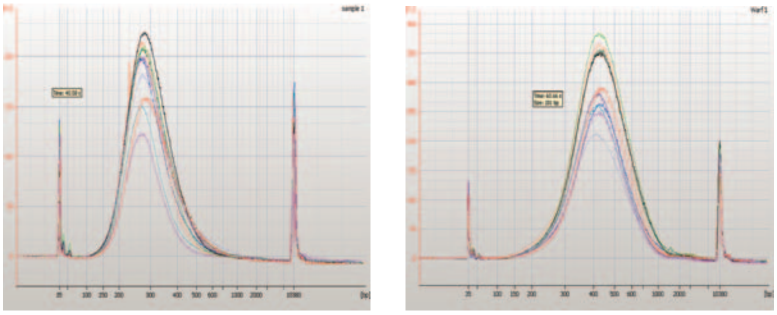


図5. 再現性の高いサイズセレクション
（アジレント社製ハイセンシティビティＤＮＡチップ）

表1. イルミナ社製 GAⅡシークエンス結果

Sample name	Read length	Total Sequence	Sequence Mapped	Unique Mapped	Reads per Startpoint (avg)
SPRIworks-shot size selection	36	17,162,237	13,988,940	12,491,985	2.09
SPRIworks-shot size selection	36	15,762,523	13,068,205	11,844,183	2.02
Control: PhiX	36	25,040,301	22,092,804	20,283,538	1894.06
SPRIworks-long size selection	51	29,019,872	21,120,729	17,558,880	2.78
SPRIworks-long size selection	51	28,273,819	21,431,987	18,237,102	2.82
Control: PhiX	51	14,963,699	14,070,370	13,674,331	1276.66

SPRIworksフラグメントライブラリシステムII

ロシュ社製 GS FLX, GS Junior用

システムIIは、ロシュ社製の次世代シークエンサーに対応し、1回の処理を約4時間で行います*1。システムIIのDNAフラグメントのサイズセレクションは、350bp+サイズセレクション、500bp+サイズセレクション、サイズセレクション無しの3タイプを選択することができます。

GS FLX Titanium Rapid Library MIDアダプタと500ngの断片化大腸菌DNAをSPRIworksで処理した後、その再現性をアジレント社製ハイセンシティビティ DNAチップで計測した結果を図6に示します。すべてのサイズセレクションにおいて、SPRIworksは、非常に再現性良くサイズセレクションを行えます。

構築したライブラリの収量をKAPAバイオシステムズのSYBR FAST qPCR キットで調べたところ、図7に見られるようにすべてのサイズセレクションにおいて高い再現性を示しました。
システムIIで構築した大腸菌ライブラリをGS FLXでシークエンスした結果を表2に示します。

＊1 サイズセレクションを行った場合です。

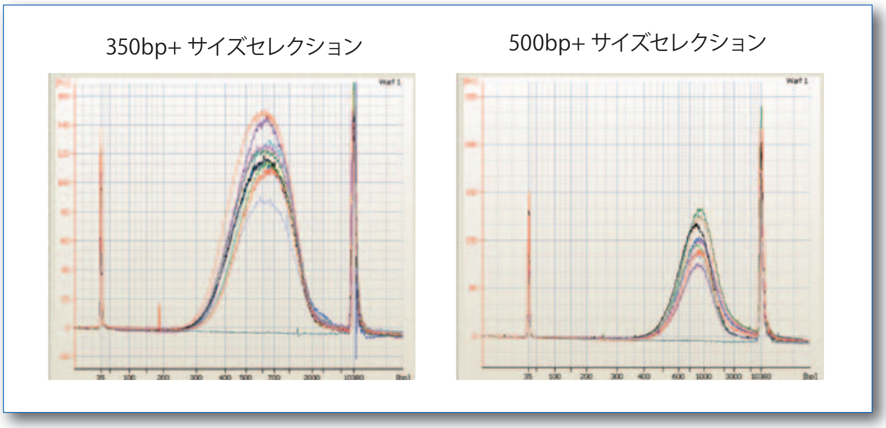


図6. 再現性の高いサイズセレクション
（アジレント社製ハイセンシティビティDNAチップ）

表2. ロシュ社製 GS FLXシークエンス結果

	350bp+	500bp+
# of Raw Wells	1,087,101	1,064,381
# Key Pass Wells	1,059,999	1,033,016
# of Filter Pass Wells	772,005	751,678
Total Bases	285,991,291	275,159,393
% Filter Pass	72.83%	72.77%
pct_dot failed	5.42%	4.62%
pct_mixed failed	3.53%	3.53%
pct_trimmed_too_short_quality	17.42%	18.53%
pct_trimmed_too_short_primer	0.79%	0.55%
read_length_average	370.51	366.2
read_length_stdev	110.76	120.42
Key_signal_per_base_average	940.3	838.77
Reads Assembled/Passing	92.55%	90.58%
Data Assembled	257 Mb	242 Mb
Reads Assembled	714k	681k
contigs	90	83
assembled length	4.5Mb	4.5Mb

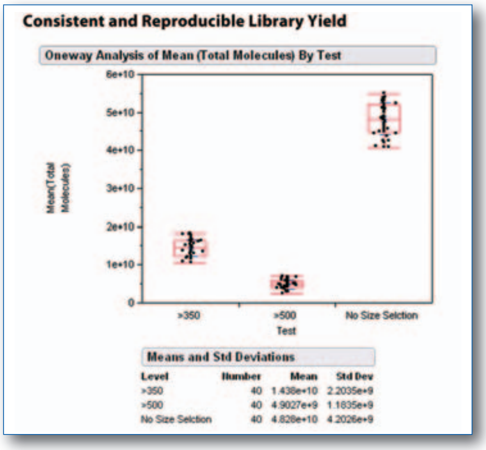


図7. 再現性の高いライブラリ収量
SYBR FAST qPCR キット(KAPA バイオシステムズ) を使用して測定しました。

SPRIworksフラグメントライブラリシステムⅢ

ライフテクノロジーズ社製 SOLiDシステム用

システムⅢは、ライフテクノロジーズ社製の次世代シークエンサーに対応し、1回の処理を約4時間で行います[*1]。システムⅢのDNAフラグメントのサイズセレクションは、150 ～250bpサイズセレクション、150 ～ 350bpサイズセレクション、サイズセレクション無しの3タイプを選択することができます。

SOLiD フラグメントライブラリオリゴおよびバーコードオリゴと1ugの断片化大腸菌DNAをSPRIworksで処理した後、その再現性をアジレント社製ハイセンシティビティ DNAチップで計測した結果を図8に示します。すべてのサイズセレクションにおいて、SPRIworksは、非常に再現性良くサイズセレクションを行えます。

構築したライブラリの収量をqPCR法で測定した結果を図9に示します。150 ～250bpサイズセレクションのとき2 ～ 4ng、150 ～ 350bpサイズセレクションのとき19 ～23ngと高い収量を示しました。ヒトゲノムの場合、約20倍のシークエンス量を得るために約1.1ngが要求されており、SPRIworksは十分量のライブラリを構築できています。

システムⅢで構築した大腸菌ライブラリをSOLiD4でシークエンスした結果を表3に示します。

＊1 サイズセレクションを行った場合です。

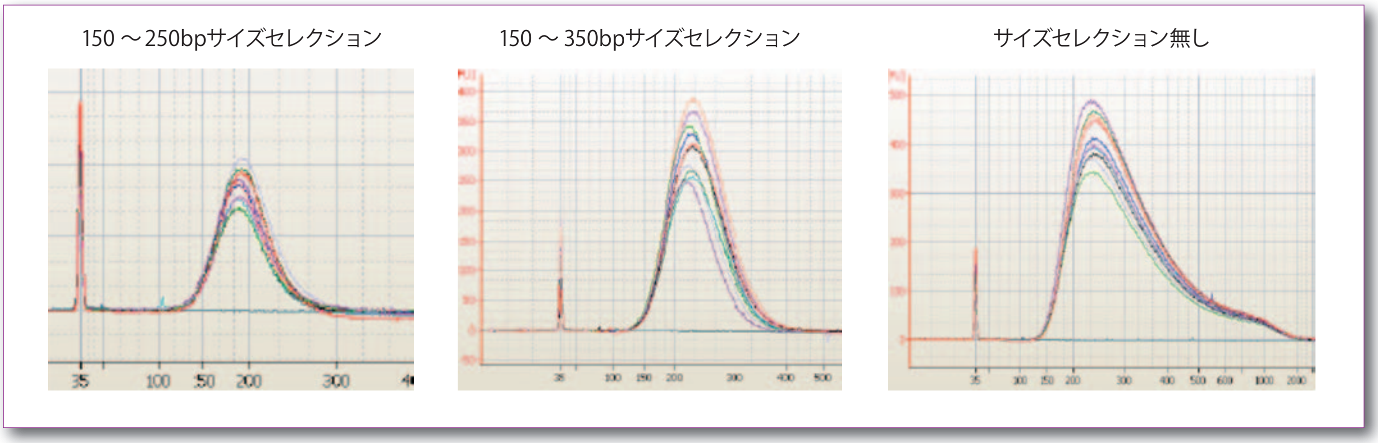


図8. 再現性の高いサイズセレクション
（アジレント社製ハイセンシティビティＤＮＡチップ）

表3. ライフテクノロジーズ社製 SOLiD4 シークエンス結果

Library Type	Post library metric - Enrichment %	Sequencing Metric - normalized reads per unique start point	Sequencing Metric - N2S	Sequencing Metric - # of Mappable Reads(SOLiD V 4.0)
SPRIworks, multiplex adapters, 150-350 Size Selection	21.8	3.06	13.2	21,742,905
SPRIworks, multiplex adapters, no size Selection	18.7	3.15	12.5	22,525,020
SPRIworks, regular adapters, no size Selection	21.3	2.81	16.8	19,816,994
SPRIworks, regular adapters, 150-350 Size Selection	17.2	3.19	14.7	23,325,760
Manual, regular adapters, gel size Selection	14.6	3.17	27.6	22,603,855
Manual, regular adapters, no size Selection	10.4	2.78	27.8	17,290,840

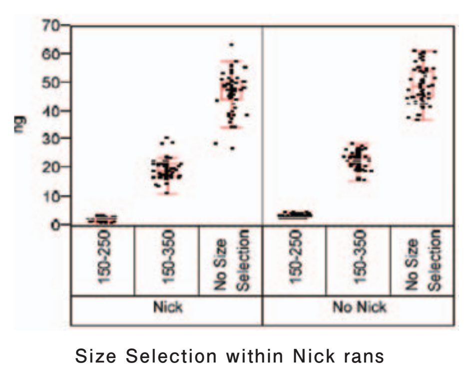


図9. 再現性の高いライブラリ収量
SYBR FAST qPCR キット(KAPA バイオシステムズ) を使用して測定しました。

次世代シークエンサー前処理装置

SPRIworksフラグメントライブラリシステム

＜主な仕様＞

対応シークエンサー
- システムⅠ：
  イルミナ社製
  Genome Analyzer, HiSeqシステム
- システムⅡ：
  ロシュ社製
  GS FLX , GS Junior
- システムⅢ：
  ライフテクノロジーズ社製
  SOLiDシステム

処理能力
1～10検体/ラン
1ラン：約4～5時間

ソフトウエア
付属メソッドカードによるプログラム管理

電源(装置本体)
100～240V、50/60Hz、336VA

寸法(装置本体)
500(W)×612(D)×645(H) mm

重量(装置本体)
56 Kg

製品番号	製　品　名	価格（税別）
SPRIworksフラグメントライブラリシステム		
A88267	SPRIworks フラグメントライブラリシステムⅠ…＊1	¥4,550,000
A88267	SPRIworks フラグメントライブラリシステムⅡ…＊2	¥4,550,000
A98473	SPRIworks フラグメントライブラリシステムⅢ…＊3	¥4,550,000
SPRIworks 専用試薬キット		
イルミナ社製 Genome Analyzer, HiSeqシステム用		
A84801	SPRIworks フラグメントライブラリキットⅠ（10サンプル分）	¥138,000
A84803	SPRIworks フラグメントライブラリキットⅠ（50サンプル分）	¥650,000
ロシュ社製 GS FLX, GS Junior用		
A84805	SPRIworks フラグメントライブラリキットⅡ（10サンプル分）	¥128,000
A84806	SPRIworks フラグメントライブラリキットⅡ（50サンプル分）	¥550,000
ライフテクノロジーズ 社製 SOLiDシステム用		
A98476	SPRIworks フラグメントライブラリキットⅢ（10サンプル分）	¥128,000
A98477	SPRIworks フラグメントライブラリキットⅢ（50サンプル分）	¥550,000
SPRIworks メソッドカード		
イルミナ社製 Genome Analyzer, HiSeqシステム用		
A84868	SPRIworks システムⅠ メソッドカード	¥500,000
ロシュ社製 GS FLX, GS Junior用		
A85410	SPRIworks システムⅡ メソッドカード	¥500,000
ライフテクノロジーズ 社製 SOLiDシステム用		
A98475	SPRIworks システムⅢ メソッドカード	¥500,000
SPRIworks Nebulizerキット		
A84871	SPRIworks Nebulizer（10サンプル分）	¥80,000
A84872	SPRIworks Nebulizer（50サンプル分）	¥365,000
SPRIworks アダプタ		
A84879	SPRIworks アダプタⅠ（10サンプル分）	¥45,000
核酸抽出アップグレードキット		
A50094	SPRI-TEスタートアップキット	¥450,000

＊1　イルミナ社製 Genome Analyzer, HiSeqシステム用
製品番号：A50100（全自動核酸抽出装置 SPRI-TE）、A84801（SPRIworksフラグメントライブラリⅠ（10サンプル分））
およびA84868（SPRIworksシステムⅠメソッドカード）が含まれます。

＊2　ロシュ社製 GS FLX, GS Junior用
製品番号：A50100（全自動核酸抽出装置 SPRI-TE）、A84805（SPRIworksフラグメントライブラリⅡ（10サンプル分））
およびA85410（SPRIworksシステムⅡメソッドカード）が含まれます。

＊3　ライフテクノロジーズ社製 SOLiDシステム用
製品番号：A50100（全自動核酸抽出装置 SPRI-TE）、A98476（SPRIworksフラグメントライブラリⅢ（10サンプル分））
およびA98475（SPRIworksシステムⅢメソッドカード）が含まれます。

SPRI、SPRI-TE、Beckman CoulterおよびBeckman Coulterロゴは、Beckman Coulter, Inc.の商標です。
●仕様・外観については、予告なしに変更する場合がありますのでご了承ください。

注意　正しく安全にお使いいただくために、ご使用の前に必ず「取扱説明書」をお読みください。

BECKMAN COULTER
We're better together

ベックマン・コールター株式会社
〒135-0063 東京都江東区有明3-5-7 TOC有明ウエストタワー
お客様専用 0120-566-730　URL http://www.beckmancoulter.co.jp/

B90023
2011.07-4000（E）